

На правах рукописи

МИЧУКОВА МАРИНА ВАЛЕНТИНОВНА

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ *DAPHNIA MAGNA* STRAUS, 1826  
В БИОИНДИКАЦИИ, УЛУЧШЕНИИ БИОПРОДУКТИВНОСТИ И  
КАЧЕСТВА ВОДЫ ВОДОЕМОВ**

03. 00. 16 – Экология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Казань - 2008

Работа выполнена на кафедре «Пищевая биотехнология»  
Казанского Государственного технологического университета

Научный руководитель	доктор технических наук, профессор Канарский Альберт Владимирович
Официальные оппоненты	доктор биологических наук, профессор Колупаев Борис Иванович  доктор биологических наук, профессор Яковлев Валерий Анатольевич
Ведущая организация	Институт экологии Волжского бассейна Российской академии наук

Защита состоится «18» сентября 2008 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета ДМ 212.081.19 Казанского государственного университета по адресу: 420111, Казань, ул. Кремлевская, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Казанского государственного университета им. Н.И. Лобачевского

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2008 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук, доцент

Р.М. Зелеев

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы

Охрана водоемов представляет собой многогранную проблему, решением которой занимается широкий круг ученых, инженерно-технических работников практически всех специальностей. Их усилия направлены на повышение эффективности мер по охране водоемов за счет освоения ресурсосберегающих, малоотходных и безотходных технологических процессов, а также комплексного использования водных ресурсов. Комплексный подход к природопользованию позволяет реализовывать экономические и экологические интересы человека не в противоречии, а во взаимодействии друг с другом. В связи с этим, исследования в области использования водных тест-организмов в народном хозяйстве являются актуальными и перспективными.

В качестве тест-организмов выбирают обычно такие виды, которые, обладая чувствительностью к загрязнению, играют значительную роль в экосистеме, являясь важным звеном в трофической сети и формируя качество среды обитания. *Daphnia magna* Straus, 1826 (класс ракообразные) – организмы, у которых широко используются по отдельности следующие свойства: индикаторная – в биотестировании, кормовая ценность – в рыбоводстве, фильтрационный способ питания – в процессах очистки вод.

В данной работе, в отличие от других исследований, осуществлен комплексный подход к изучению тест-организма *D. magna* и разработаны рекомендации по его использованию на очистных сооружениях. Изучение проявлений индикационных свойств *D. magna*, позволило определить ряд сточных вод, где возможно как осуществление их средообразующей функции, так и выращивание дафний для кормовых целей. Внедрение в практику таких технологий, где используются различные свойства гидробионтов, позволит сделать охрану окружающей среды не затратной, а выгодной.

### Цель и задачи исследований

Цель настоящей работы – определение проявлений индикационных свойств, трофической и средообразующей функций тест-организмов *D. magna* в искусственных и природных жизненных средах.

Достижение цели предусмотрено через решение следующих задач:

1. Определение особенностей проявления индикационных свойств *D. magna* при оценке качества природных и сточных вод промышленных предприятий на примере г. Волжска.
2. Определение проявлений индикационных свойств тест-организмов *D. magna* при оценке степени токсичности твердых производственных коро-содержащих отходов.
3. Оценка возможности использования средообразующей функции тест-организмов *D. magna* в сточных водах Марийского целлюлозно-бумажного комбината и хлебокомбината г. Волжска
4. Обоснование возможности использования тест-объекта *D. magna* в технологическом процессе очистки городских сточных вод с целью получения до-

бавочного продукта «живого корма» и улучшения качества сточных вод, и разработка рекомендаций по выращиванию культуры *D. magna* на сточных водах, прошедших биологическую очистку на биологических очистных сооружениях МУП «Водоканал».

### **Научная новизна**

В отличие от стандартных методик, где оценка степени токсичности основана на изменении показателя выживаемость дафний, в данной работе показана приоритетность показателя – изменение физиологического состояния дафний при оценке качества природных вод методами биотестирования.

Впервые изучено качество сточных вод основных предприятий г. Волжска методами токсикологического анализа. В ходе исследований особенностей проявления индикационных свойств *D. magna* при оценке качества природных вод и стоков предприятий г. Волжска выявлены новые специфические реакции на некоторые виды загрязнения – всплывание и прикрепление к поверхностной пленке воды дафний в горизонтальном положении в сточных водах предприятий машиностроительного комплекса и поражение дафний грибом в водах, взятых с участков, подверженных сильной рекреационной нагрузке.

При изучении средообразующей функции и трофической роли *D. magna* выявлено улучшение на 46% качества сточных вод пищевого производства по показателю ХПК и обеззараживание сточных вод после биологической очистки в результате жизнедеятельности дафний.

Впервые доказано, что в рамках одного технологического процесса – очистки сточных вод, и без создания специальных гидротехнических сооружений, возможно использование тест – организма *D. magna* как индикатора токсичности, для обеззараживания стоков и для получения «живого корма», ценного в пищевом отношении продукта.

### **Практическая значимость**

Данные о степени токсичности поступающих сточных вод на МУП «Водоканал» могут быть использованы при оценке их влияния на зоокомпоненты биоценозов активного ила биологических очистных сооружений. Результаты исследований о степени токсичности сточных вод МЦБК используются лабораторией МЦБК для мониторинга состояния пруда-отстойника МЦБК, водотока-залива и о. Лопатинский и Куйбышевского водохранилища в районе г. Волжска.

Полученные результаты исследований и разработанные на их основе практические рекомендации позволят МУП «Водоканал» добиться улучшения качества очистки сточных вод по бактериологическому показателю, снизить затраты на обеззараживание сточных вод, улучшить качество природных вод, за счет устранения отрицательного действия хлорорганических соединений, используемых при обеззараживании.

**Обоснованность и достоверность** результатов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала, соблюдением условий стандартных методик физико-химического, бактериологического и биологи-

ческого анализа качества вод, применением при обработке результатов исследования статистических методов: дисперсионный анализ, показателей достоверности различий между сравниваемыми величинами.

### **Апробация результатов работы**

Основные положения и результаты исследований были представлены на Межрегиональных, Российских и Международных научно-практических конференциях: «Круглый стол», посвященный проблемам в области использования, охраны и восстановления водных ресурсов на территории Республики Марий Эл, МарГТУ, 2003г., Межрегиональные конференции молодых ученых «Пищевые технологии», Казань, КГТУ, 2003, 2004гг., Международная молодежная конференция «Экология – 2003», Архангельск, Ин-т экологических проблем Севера УрО РАН, 2003г., VI Международный конгресс «Вода: экология и технология Экватэк-2004», г. Москва, 2004г., IV Международный симпозиум «Строение, свойства и качество древесины», Санкт-Петербург, СПбГЛТА, 2004г., II и III Московский международный Конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития», 2003, 2005гг.; III Юбилейная международная выставка-конференция «Высокоэффективные пищевые технологии, методы и средства для их реализации», МГУПП, г. Москва, 2005г.; Девятая Международная научно-техническая конференция Пап-Фор, СПб, 2006г., Международная научно-практическая конференция «Экологические проблемы отраслей народного хозяйства, ПГТА, Пенза, 2006г., 1 –ая Всероссийская научная конференция «Ресурсосберегающие, водо- и почвоохранные биотехнологии, основанные на использовании живых экосистем, Казань, 2006г.

### **Публикации**

По теме диссертационной работы опубликовано 18 научных работ, в т.ч. 3 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК.

### **Личное участие автора**

Диссертанту принадлежит разработка теоретических и методических положений решения задач исследований, сбор и анализ экспериментального материала, обработка и обобщение результатов исследований, формулировка основных выводов, разработка рекомендаций.

### **Положения, выносимые для защиты:**

1. При изучении качества природных и сточных вод методом биотестирования приоритетными показателями являются изменение физиологического состояния *D. magna* и специфические реакции, поэтому имеется необходимость включения данных показателей в стандартную систему оценки качества среды.

2. Средообразующая функция *D. magna* может быть использована для очистки сточных вод отдельных производств пищевой и целлюлозно-бумажной промышленности и для улучшения качества очистки городских сточных вод по бактериологическому показателю.

3. На городских стоках, прошедших биологическую очистку, возможно выращивание культуры *D. magna* и использование ее свойств для повышения

эффективности контроля уходящих сточных вод, обеззараживания стоков и получения «живого корма», ценного кормового продукта.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, шести основных глав, выводов, предложений производству, списка литературы и приложений. Общий объем диссертации составляет 150 страниц, включая 37 таблиц, 23 рисунка. Список использованной литературы включает 108 источников.

## **1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

В водно-токсикологических исследованиях *D. magna* используется как тест-объект уже свыше 70 лет. В России развитие биотестирования связано в первую очередь с работами Н.С. Строганова (1971, 1987) и Л.А. Лесникова (1971). Большой вклад в развитие методики биотестирования на *D. magna* и практическое применение данного метода внесли О.Ф. Филенко (1988), Л.П. Брагинский (1987, 2000), Б.И. Колупаев (1982, 1992, 2005) и др. В настоящее время данный тест-объект является базовым объектом биотестирования для экотоксикологов. Дафний применяют не только для оценки токсичности воды, но и для установления токсичности загрязнений почв в водных вытяжках (Руководство..., 2002).

Использование *D. magna* как объекта производственного культивирования в качестве «живых кормов» в рыболовной промышленности связано с работами: И.Б. Богатовой (1971, 1980, 1992), М.М. Брискиной (1955, 1960), Г.А. Васильевой (1959), В.Е. Кокковой (1980), О.Д. Романычевой (1963), Г.А. Галковской и др. (1979), М.К. Аскерова (1965) и др. *D. magna* – вид, занимающий одно из первых мест по масштабам его использования в качестве живого корма для рыб. Разработаны различные способы разведения дафний: в бассейнах, садках, прудах, при этом разведение может быть непроточным, проточным, а также комбинированным – различные сочетания этих двух типов.

Исследования, связанные с изучением питания *D. magna* и роли ракообразных в самоочищении природных вод проводились И.Н. Андрониковой (1976), Н.С. Гаевской (1945, 1949), Т.Н. Герасимовой и П.И. Погожевым (2002), Б.Л. Гутельмахером (1986), Л.М. Сушня (1975), Н.М. Крюкова и В.Х. Рыбак (1976), А.П. Павлютиным (1979), А. Г. Родиной (1950) и др. В настоящее время показано, что особи *D. magna* более успешно, чем другие, могут культивироваться на чисто бактериальном корме и использовать в качестве пищи растворенные органические вещества. Фильтрационный способ питания дафний позволяет снижать степень трофности водоемов и увеличивать прозрачность воды. В исследованиях В.В. Александрова и Н.А. Мироновой (1996) использована фильтрационная способность дафний для осветления воды в прудах с животноводческими стоками, стекающими в водоемы по поверхности земли.

Приведенные выше авторы в основном использовали односторонний

подход к изучению дафний и исследовали либо их биоиндикационную способность при оценке модельных растворов или сточных вод, либо их роль в процессах самоочищения только природных вод, либо вопросы производственного культивирования дафний в качестве живых кормов на природных водах или в теплообменниках. Опубликовано мало работ по изучению использования средообразующей функции дафний в сточных водах, и не встречаются работы, посвященные изучению одновременного использования средообразующей функции и кормового значения (наращивание биомассы) дафний для получения кормов.

Проведенный анализ имеющихся разработок и практический опыт показали, что возможно комплексное использование дафний, которое приведет к повышению эффективности контроля уходящих сточных вод, получению добавочного продукта – «живого корма» дафний для прудового хозяйства, дополнительной очистке сточных вод по бактериологическому показателю.

## **2. ОБЪЕКТЫ, МЕТОДЫ И ОБЪЕМ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Исследования по определению проявлений индикационных свойств *D. magna* проводились в период с 2000 по 2007 гг. на различных природных и производственных объектах г. Волжска.

Для изучения индикационных свойств *D. magna* в природных водах были взяты следующие объекты: залив Куликово, Куйбышевское водохранилище в районе города Волжска, городская речка Коноплянка.

В ходе исследований использовалась методика оценки качества природных вод Л.А. Лесникова. Ставились хронические опыты в 3 повторностях в банках емкостью 0,3 дм<sup>3</sup>, после выравнивания температур в пробе воды и маточной культуре дафний. В каждый сосуд помещалось по 10 дафний, и затем (не реже одного раза в двое суток) регистрировалось состояние дафний под микроскопом. При просмотрах у дафний регистрировалось физиологическое состояние: окраска тела, наполненность кишечника, состояние фильтровального аппарата. Средняя плодовитость дафний и количество сброшенных створок вычислялись в пересчете на 1 особь за 1 сутки. У погибших и иммобилизованных дафний регистрировались симптомы гибели.

При изучении проявления индикационных свойств *D. magna* в сточных водах производственных объектов исследовались следующие предприятия г. Волжска: автотранспортное предприятие - Волжское АТП, целлюлозно-бумажный комбинат - ОАО «МЦБК», домостроительный комбинат - ЗАО «Заря», хлебокомбинат, завод продовольственного машиностроения - ЗАО «ВолжскПродМаш», завод производства холодильных установок - АО «Ариада», завод продовольственного машиностроения ЗАО «Завод Совитал-продмаш», Волжский инструментальный завод - ОАО «ВИЗ», Волжский электромеханический завод – ВЭМЗ, предприятие бытового обслуживания – «Химчистка», биологические очистные сооружения МУП «Водоканал».

Ставились острые опыты длительностью 24, 48, 72 и 96 часов по стан-

дартным методикам. Химический анализ сточных вод проводился по стандартным методикам по 23 показателям.

Оценка степени токсичности твердых отходов Марийского ЦБК проводилась в водных вытяжках. Для приготовления водной вытяжки кора предварительно измельчалась и в сушильном шкафу при температуре 105°C доводилась до постоянной массы, затем в соотношении 1:10 по массе заливалась отстоянной водопроводной водой на 2 суток.

При оценке возможности использования средообразующей роли *D. magna* в очистке сточных вод пищевых производств исследовались сточные воды хлебобулочного производства ОАО «Волжский хлебокомбинат». Степень очистки сточных вод оценивалась по показателю ХПК. Дафнии помещались в емкости  $V=1 \text{ дм}^3$  с плотностью посадки 66 экз/дм<sup>3</sup>. Измерение ХПК проводилось через 2 и 5 суток после помещения дафний в стоки.

Исследования по изучению возможности использования тест-объекта *D. magna* в технологическом процессе очистки городских сточных вод с целью получения добавочного продукта «живого корма» и улучшения качества сточных вод проводились на БОСК МУП «Водоканал» г. Волжска. При этом изучался рост и плодовитость дафний в стоках после вторичных отстойников, с различной плотностью их посадки: 25 экз/дм<sup>3</sup>; 33 экз/дм<sup>3</sup>; 50 экз/дм<sup>3</sup>, а также изменение качества сточных вод при помощи физико-химического анализа по показателям:  $NH_4^+$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $pH$ , и бактериологического анализа по количеству колиформных бактерий (ОКБ). Расчет индивидуальной массы дафний проводился на основании результатов измерения их размеров и по формуле Винберга-Балушкиной:

$$W = q \cdot I^b,$$

где  $W$  – индивидуальная масса, мг;  $I$  – длина тела, мм;  $q$  и  $b$  – эмпирические коэффициенты, равные для *D. magna* соответственно 0,094 и 2,917.

Произведена оценка степени токсичности выращенных на сточных водах дафний по выживаемости и росту четырех суточных мальков аквариумных рыбок *Poecillia reticulata* Peters, которых кормили молодью культуры дафний, выращенной на стоках в течение трех поколений. Продолжительность опыта по изучению токсичности дафний составила 10 суток.

### **3. ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРОЯВЛЕНИЯ ИНДИКАЦИОННЫХ СВОЙСТВ *DAPHNIA MAGNA* ПРИ ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ПРИРОДНЫХ ВОД**

Изучение особенностей проявления индикационных свойств *D. magna* при оценке качества природных вод проводились по методике Л.А. Лесникова в Куйбышевском водохранилище в районе сброса сточных вод с очистных сооружений г. Волжска в 2001 и 2002 гг, в заливе Куликово Куйбышевского водохранилища в зоне высокой рекреационной нагрузки в 2003-2004 гг. и в городской мелководной речке Коноплянка, испытывающей сильное антропо-



генное воздействие в 2006-2007 гг.

### **3.1. Изучение качества вод района Куйбышевского водохранилища в месте сброса сточных вод с городских очистных сооружений г. Волжска**

Сброс сточных вод с городских очистных сооружений в Куйбышевское водохранилище осуществляется по двум трубопроводам биологических очистных сооружений (БОС) №1 и №2. Коллектор БОС № 2 во многих местах имеет повреждения, через которые стоки поступают в водоем.

На основании различной продолжительности жизни и изменении физиологического состояния дафний были сделаны выводы о том, что в мелководной, с низкой скоростью течения воды, прибрежной зоне района сброса сточных вод с очистных сооружений №1, а также при незапланированном попадании сточных вод через разрушенные участки коллектора от БОС №2 происходит эвтрофирование водоема. Вода на данном участке по определительной таблице Л.А. Лесникова относится к мезосапробному участку. Это происходит за счет накопления на дне реки органических и взвешенных веществ поступающих стоков. Иная картина наблюдается в проектном месте сброса сточных вод городских очистных сооружений №2, где имеется достаточно сильное течение, которое способствует разбавлению поступающих стоков. Вода, взятая с этого участка, как и выше места сброса, относится к олигосапробной зоне. Анализ скорости роста дафний показал, что ее максимальные значения были зафиксированы в пробах с повышенным содержанием органических веществ. Проявление индикационных свойств дафний при анализе качества природных вод в большей степени выразилось в симптомах гибели дафний, которые были зафиксированы при микроскопировании, затем в изменениях показателя роста и только затем в изменении показателя выживаемость. Основными симптомами гибели дафний как в пробах с олигосапробных участков, так и в пробах с мезосапробных участков были признаки голодания. Однако, в первом случае голодание было вызвано отсутствием пищи, во втором случае невозможностью функционирования фильтровального аппарата дафний, который был забит сгустками.

### **3.2. Изучение качества воды в заливе Куликово в зоне высокой рекреационной нагрузки**

В городе Волжске одним из наиболее используемых для купания водоемов является залив Куликово. Кроме рекреационной нагрузки, залив испытывает и другие виды антропогенного воздействия: на северном побережье производится выпас скота, автолюбители используют водоем для мытья автотранспорта.

Изучение качества воды в заливе Куликово проводилось в начале и конце лета, т.е. в периоды с различной степенью антропогенной нагрузки. Для анализов были отобраны пробы воды в трех точках: северный берег залива Куликова; район интенсивного купания на западной стороне залива; Куйбы-

шевское водохранилище в районе г. Волжска. Анализ результатов исследований показал, что качество воды в заливе Куликово меняется в зависимости от времени года. Основной причиной гибели дафний в пробах воды взятых в заливе Куликово в конце лета являлось поражение грибом (в воде, взятой у северного побережья 53% погибших особей; в воде, взятой у западного побережья 67% погибших особей), при этом панцирь дафний был пронизан гифами грибка. Вода, взятая из Куйбышевского водохранилища, по определительной таблице Л.А.Лесникова относилась к олигосапробной, случаев поражения дафний грибом, как и в контроле, отмечено не было.

В ходе данных исследований впервые была выявлена новая специфическая реакция дафний на рекреационную нагрузку в водоеме - поражение дафний грибом. Результаты данных исследований подтвердили приоритетность использования показателя физиологическое состояние дафний при оценке качества природных вод.

#### **4. ИЗУЧЕНИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ИНДИКАЦИОННЫХ СВОЙСТВ *DAPHNIA MAGNA* ПРИ ОЦЕНКЕ СТЕПЕНИ ТОКСИЧНОСТИ ЖИДКИХ И ТВЕРДЫХ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ОТХОДОВ**

##### **4.1. Индикационные свойства *Daphnia magna* при оценке степени токсичности сточных вод предприятий г.Волжска**

В ходе исследований проявлений индикационных свойств *D. magna* при оценке токсичности жидких производственных отходов был проведен токсикологический анализ сточных вод хлебокомбината и 9 основных предприятий г. Волжска.

Результаты токсикологического анализа сточных вод хлебокомбината показали, что наиболее токсичными являются хозяйственные стоки, где выживаемость дафний была равна нулю уже через два часа опыта. По показателю ХПК и количеству взвешенных веществ наиболее загрязненными являются стоки пряничного цеха. Величины ХПК и количества взвешенных веществ в стоках пряничного цеха превышают допустимые значения для сброса в систему городской канализации в 4 и 1,2 раза соответственно, однако наиболее токсичными оказались хозяйственные стоки (таблица 1).

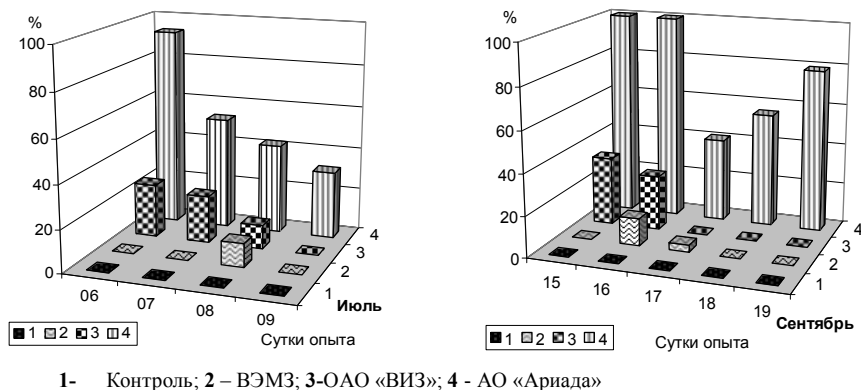
**Таблица 1. Данные физико-химического и токсикологического анализов сточных вод хлебокомбината**

Показатель	Стоки пряничного цеха	Стоки хлебобулочного цеха	Хозяйственные стоки
pH	7,30	6,80	7,94
ХПК мгО <sub>2</sub> /дм <sup>3</sup>	3000	740	400
Взвешенные вещества, г/дм <sup>3</sup>	0,61	0,14	0,15
Выживаемость дафний за 1 сутки опыта, %	68,3	55,0	0

Таким образом, результаты токсикологического и физико-химического

анализа показали, что не всегда самые загрязненные стоки являются наиболее токсичными, а менее загрязненные могут обладать более высокой степенью токсичности. Химический анализ множества компонентов для выявления наличия токсических веществ достаточно длителен, сложен и трудоемок, поэтому контроль качества сточных вод, поступающих на биологическую очистку должен включать и методы биотестирования, позволяющие оперативно выявить их токсичность.

В ходе исследований токсичности стоков 9 предприятий г. Волжска в июле 2005 года наиболее токсичными оказались стоки ЗАО «Заря», которые относятся по шкале Н.С. Строганова к категории «весьма сильная токсичность». Выживаемость дафний в них была равна нулю уже через сутки опыта. Стоки остальных предприятий по показателю выживаемость не обладали острой токсичностью для дафний. В месте с тем, в стоках АО «Ариада», ВИЗ и ВЭМЗ была обнаружена токсическая реакция дафний: живые дафнии через сутки опыта всплывали и были прикреплены к поверхностной пленке воды, тело находилось в горизонтальном положении.



1- Контроль; 2 – ВЭМЗ; 3-ОАО «ВИЗ»; 4 - АО «Ариада»

**Рис 1. Количество всплывших особей дафний в стоках предприятий г. Волжска, 2005г**

В контроле физиологическое состояние дафний было в пределах нормы. Максимальное количество всплывших дафний наблюдалось в стоках АО «Ариада» в первые сутки опыта, затем количество всплывших дафний снижалось, так же как и в других пробах. При микроскопировании всплывших дафний, поражение панциря грибом или инфузориями обнаружено не было, у некоторых дафний в этих пробах был затруднен процесс линьки. Появление данной токсической реакции возможно связано с особенностями производства: именно на этих предприятия есть компрессорные станции, механическое производство по обработке металлов и переработке пластмасс.

В сентябре наиболее токсичными стоками были стоки предприятия «Химчистка». Стоки остальных предприятий не обладали острой токсичностью. Токсическая реакция дафний в сентябре была зафиксирована в стоках

тех же предприятий, что и в июле.

Таким образом, при изучении токсичности сточных вод предприятий г. Волжска была выявлена новая специфическая реакция дафний на действие загрязняющих веществ сточных вод, благодаря которой, было выявлено отклонение от нормы, не проявившееся при оценке показателя выживаемость.

При изучении степени токсичности сточных вод поступающих на биологическую очистку была произведена оценка силы влияния фактора общее загрязнение сточных вод по показателю ХПК на результативный признак выживаемость дафний, при помощи дисперсионного анализа однофакторных неравнозначных комплексов по критерию Фишера. При этом были использованы данные физико-химического и токсикологического анализов всех исследуемых проб, как в июле, так и в сентябре. Вычисленное дисперсионное отношение  $F_{\text{ф}} = s_a^2 / s_e^2 = 1237,8 / 1096,0 = 1,13$  значительно меньше  $F_{\text{ст}} = 5,67$  для  $k_a = 4$  и  $k_e = 11$  и 1% - ного уровня значимости, и, следовательно, считать достоверным влияние фактора и исследуемый признак нет оснований. То есть повышенные значения ХПК в сточных водах не всегда говорят об их высокой токсичности и наоборот. Это свидетельствует о недостаточности применения методов физико-химического анализа при контроле сточных вод, поступающих на биологическую очистку и необходимости использования методов биотестирования.

#### 4.2. Индикационные свойства *Daphnia magna* при оценке токсичности твердых коросодержащих отходов Марийского ЦБК

На том основании, что наибольшую опасность для объектов окружающей среды представляет водно-миграционный путь распространения токсичных компонентов, изучена возможность использования индикационных свойств *D. magna* при оценке токсичности твердых производственных отходов Марийского ЦБК. При этом исследовались: коросодержащие отходы различных пород деревьев; изменения токсичности коросодержащих отходов в зависимости от времени пребывания и глубины залегания в короотвале; влияние коросодержащих отходов на состояние почв.

Результаты исследований (таблица 2) показали, что водные вытяжки

**Таблица 2. Выживаемость дафний в водных вытяжках коросодержащих отходов, в %**

Виды коросодержащих отходов	Сутки опыта									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Свежая березовая кора	100	100	100	100	100	100	67,7	33,3	33,3	33,3
Свежая кора хвойных пород деревьев	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Лежалая осиновая кора	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Свежая осиновая кора	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Липовая лежалая кора	100	33,3	33,3	33,3	33,3	0	0	0	0	0
Свежая липовая кора	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Малоперегнившая кора разл. пород деревьев	100	100	100	100	100	67,7	67,7	67,7	0	0
Перегнившая кора различных пород деревьев	100	100	100	100	100	67,7	67,7	67,7	67,7	33,3

коры хвойных пород деревьев, свежей и лежалой коры осины, лежалой коры липы относятся к категории «весьма сильная токсичность». К категории «средней токсичности» относится водная вытяжка березовой коры, мало перегнившей и перегнившей коры различных пород деревьев. Водная вытяжка свежей коры липы относится к категории "слабая токсичность или отсутствие ее"

В ходе исследований по изучению изменения токсичности коросодержащих отходов в зависимости от глубины залегания были отобраны пробы смешанных коросодержащих отходов на глубине 0–5см, 5–10см, 10–15см, 15–20см, 60–70см - у самой поверхности почвы. Результаты исследований показали, что наиболее токсичными являются пробы коры, взятые с поверхности короотвала – 1 и 2 слой. В пробах, взятых глубже, выживаемость дафний через сутки опыта была более 50%, однако, на вторые сутки опыта, количество живых дафний сократилось до 0%, т.о. все исследуемые пробы относятся к категории «весьма сильная токсичность» по шкале Н.С. Строганова (рис. 2.)

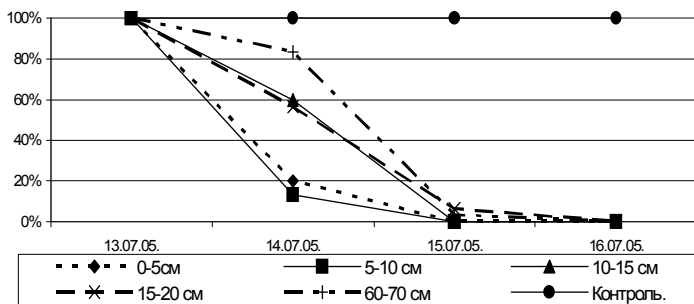


Рис 2. Выживаемость дафний в водных вытяжках коросодержащих отходов, залегающих на различной глубине

В ходе исследований влияния коросодержащих отходов на состояние почв пробы были отобраны на следующих глубинах: нижний слой коры; глубина почвы 0-10 см; 50см. В качестве контроля была взята проба почвы в 200м от короотвала. Наиболее токсичной - категория «весьма сильная токсичность», оказался нижний слой коры короотвала.

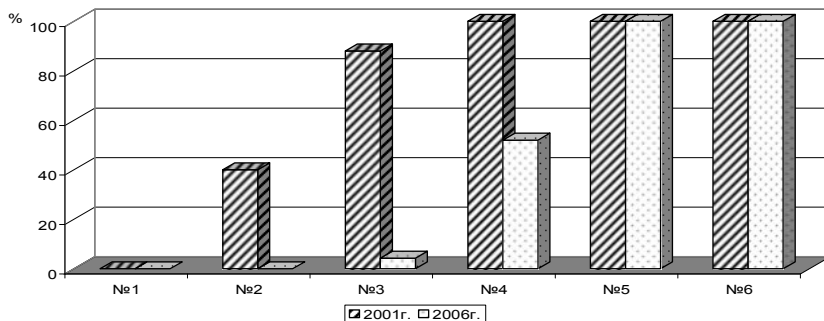
Водная вытяжка почвы, взятой на глубине 0-10 см, не обладала острой токсичностью. Выживаемость дафний в ней составила 83%. Выживаемость дафний в водной вытяжке почвы, взятой на глубине 50 см, была равна 100 %, т.е. данная проба не обладала острой токсичностью. Почва под данным короотвалом по гранулометрическому составу относится к тяжелому суглинку, что повлияло на задержку загрязняющих веществ в поверхностном слое почвы. Таким образом, индикационные свойства *D. magna* хорошо проявляются при исследовании и твердых производственных отходов.

## 5. ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СРЕДООБРАЗУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ *DAPHNIA MAGNA* В УТИЛИЗАЦИИ ЖИДКИХ ОТХОДОВ

### 5.1. Оценка возможности использования средообразующей функции *Daphnia magna* в утилизации сточных вод Марийского ЦБК

Стоки Марийского ЦБК поступают в пруд-отстойник о. Лопатинский, а затем через водоток-залив в Куйбышевское водохранилище. По мере прохождения по пруду-отстойнику изменяется их состав и токсичность. Для выполнения средообразующей функции зоопланктону необходимо отсутствие острой токсичности стоков, поэтому в данных исследованиях изучено изменение токсичности сточных вод Марийского ЦБК в пруду – отстойнике, на различных стадиях производства, а также поиск путей снижения токсичности стоков для возможности осуществления средообразующей роли дафний.

Исследования 2001 и 2006 г.г. показали, что токсичность стоков Марийского ЦБК, поступающих для очистки в пруд-отстойник и водоток-залив о. Лопатинский снижается по мере прохождения с места сброса от категории «весьма сильная токсичность» до категории «слабая токсичность или отсутствие ее» (рис. 3).



№1 – производственные сточные воды МЦБК; №2- вода из пруда - отстойника; №3-вода из первой части водотока-залива; №4-вода из середины водотока-залива; № 5-вода на выходе из водотока- залива; № 6- вода из устья водотока-залива о. Лопатинский

Рис 3. Выживаемость дафний в опыте со сточной водой МЦБК в пробах воды из пруда – отстойника и водотока-залива о. Лопатинский

Средняя летальная концентрация производственного стока из дюкера равна 32%, что соответствует 3-х кратному разведению, минимальный порог чувствительности  $LC_0$  равен 4% концентрации стока, т.е. его 25 кратному разведению. Таким образом, средообразующая функция дафний может быть выполнена при 25 кратном разбавлении стока, что экономически и экологически не выгодно.

Для оценки возможности выполнения дафниями средообразующей функции были поставлены опыты со стоками отдельных цехов предприятия: варочного, отбельного и химического. Выживаемость в стоках отбельного цеха на третьи сутки опыта составила 44,4%, что по шкале Н.С. Строганова говорит о наличии «весьма сильной токсичности». К категории "сильной токсичности" относятся стоки варочного цеха, выживаемость в данной пробе воды составила 62% на конец опыта.

После закрытия отбельного цеха наиболее токсичными оказались стоки выпарной станции и промывного цеха, в которых более 50% дафний погибло через одни сутки и через двое суток соответственно (таблица 3.)

**Таблица 3. Изменение выживаемости дафний в стоках отдельных цехов МЦБК, в %**

Исследуемые пробы	Сутки опыта					
	1	2	3	4	5	6
Контроль	100	100	100	100	100	100
Варочный	100	100	100	100	100	100
Промывной	100	76,5	41,2	0	0	0
Выпарной	100	38,9	5,6	0	0	0
СРК	100	100	100	94,4	94,4	94,4
Бумажная фабрика	100	100	100	100	100	100
ВНИИБ	100	100	100	100	100	100
Дюкер	100	0	0	0	0	0

Стоки остальных цехов предприятия не обладали острой токсичностью, т.к. выживаемость дафний в этих пробах статистически не отличалась от контроля. Аэрация стоков отдельных цехов предприятия в течение 2 суток позволила снизить токсичность стоков промывного цеха на 100%, выпарной станции на 61%, а производственного стока только на 39%. Наиболее устойчивыми к окислению кислородом воздуха оказались выпарные конденсаты целлюлозного производства, тогда как восстановители в стоках других производств легче поддаются окислению.

Таким образом, средообразующая функция дафний выполнима только в стоках отдельных цехов комбината: сордерегенерационного, бумажных фабрик, ВНИИБ, и в стоках промывного цеха после двух суточной их аэрации.

## **5.2. Оценка возможности использования средообразующей роли *Daphnia magna* при очистке сточных вод пищевых производств**

В пищевом производстве, хлебопекарном в частности, в отличие от сульфат-целлюлозного производства, образуются сточные воды, в состав которых входят в основном вещества биогенного характера – это органические вещества: белки, углеводы, жиры и т.п., которые по своей природе являются не токсичными, а эвтрофными. Для оценки возможности выполнения средообразующей функции *D. magna* в сточных водах пищевого производства было выполнено биотестирование сточных вод кондитерского и хлебобулочного цехов хлебокомбината и произведена оценка степени очистки стоков в

результате средообразующей роли дафний по интегральному показателю ХПК. Было выявлено, что для наращивания биомассы дафний могут быть использованы только стоки булочного цеха, которые не обладали острой токсичностью по шкале Н.С. Строганова: значения выживаемости дафний в них незначительно отличались от контроля. В неразбавленных стоках кондитерского цеха выживаемость дафний стала равна 0 уже через сутки опыта. При их разбавлении в 2 и 5 раз выживаемость дафний увеличилась до 83% и 100%, соответственно. Наиболее интенсивный рост и плодовитость дафний наблюдались в стоках булочного цеха, что подтверждает выводы о возможности реализации средообразующей функции *D. magna* в них.

В результате жизнедеятельности дафний в течение 2 суток в стоках (плотность посадки - 66 экз/дм<sup>3</sup>) ХПК в стоках снизилось на 280 мг О<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup> за 2 суток и еще на 60 мг О<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>, за последующие 3 суток опыта. В итоге за 5 суток опыта ХПК снизилось на 46%. В стоках без дафний значение ХПК снизилось на 140 мг О<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup> или на 19% (рис.4).

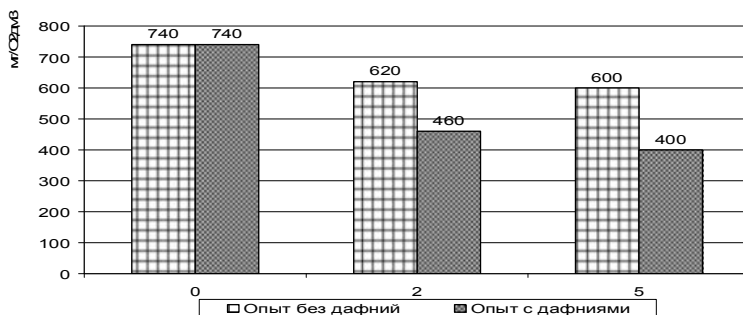


Рис 4. Изменение ХПК в стоках хлебобулочного производства в результате средообразующей деятельности дафний

## 6. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ *DAPHNIA MAGNA* В ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ ПРОЦЕССЕ ОЧИСТКИ ГОРОДСКИХ СТОЧНЫХ ВОД

Очищенные сточные воды после биологических очистных сооружений имеют некоторые преимущества при их использовании для выращивания дафний перед природными водами. В них содержится незначительное количество загрязняющих веществ (ХПК=20-30 мгО<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>), кроме того, они обладают положительной температурой воды как в летнее время ( $t^0=+20\div22^0\text{C}$ ), так и в зимнее время ( $t^0=+8\div12^0\text{C}$ ). Биологически очищенные сточные воды содержат микрофлору, оставшуюся в воде после осаждения активного ила, это положительно сказывается на трофических условиях выращивания дафний, что может позволить в перспективе снизить себестоимость «живого корма».

Были изучены продукционные свойства экспериментальной популяции *D. magna* в сточных водах после вторичных отстойников для разработки рекомендаций по получению «живого корма»; оценка влияния средообразую-



шей функции дафний на качество сточных вод; оценка степени токсичности выращенного «живого корма» дафний. Изучен рост и плодовитость дафний в исследуемых стоках с плотностью посадки: 1 вариант -25 экз/дм<sup>3</sup>; 2 вариант - 33 экз/дм<sup>3</sup>; 3 вариант – 50 экз/дм<sup>3</sup>. Максимальные размеры взрослых особей на конец опыта и плодовитость были зафиксированы в опыте с плотностью посадки 25 экз/дм<sup>3</sup>, а минимальные – в опыте с плотностью посадки - 50 экз/дм<sup>3</sup> (таблица 4).

**Таблица 4. Средняя индивидуальная масса и плодовитость взрослой особи *D. magna* на конец опыта**

Плотность посадки	Масса 1 взросл. особи, мг	Плодовитость дафний, экз/сутки
25 экз/дм <sup>3</sup>	1,68	0,74
33 экз/дм <sup>3</sup>	1,47	0,61
50 экз/дм <sup>3</sup>	1,35	0,35

Однако темп роста популяции дафний в целом оказался максимален во втором опыте, где характеристики роста и плодовитости находились на среднем уровне, а общая биомасса дафний в конце опыта – максимальна (таблица 5). Следовательно, рациональной для выращивания дафний является первоначальная плотность посадки взрослых дафний 33 экз/дм<sup>3</sup>. При достижении культурой дафний плотности посадки равной – 50-67 экз/дм<sup>3</sup> необходимо частичное изъятие продукции.

**Таблица 5. Продукционные характеристики популяции дафний в вариантах опыта с различными плотностями посадки**

Показатель	Сутки опыта									
	4.07.	5.07.	6.07.	7.07.	8.07.	9.07.	10.07	11.07	12.07	13.07
Плотность посадки 50 экз/дм <sup>3</sup>										
Биомасса взрослых особей, мг	23,49	27,67	40,82	44,56	45,12	47,98	51,26	57,28	56,30	60,63
Биомасса молоди, мг	0	0	0	0,04	0,31	0,63	5,06	7,05	10,84	14,82
Темп роста, мг/сут	5,2									
Плотность посадки 33 экз/дм <sup>3</sup>										
Биомасса взрослых особей,мг	17,23	20,3	29,93	30,10	33,92	32,47	36,92	47,52	49,10	48,58
Биомасса молоди, мг	0	0	0	0,14	0,43	0,75	3,28	7,91	11,39	28,80
Темп роста, мг/сут	6,01									
Плотность посадки 25 экз/дм <sup>3</sup>										
Биомасса взрослых особей, мг	12,01	14,15	20,86	25,13	23,93	24,52	31,51	32,22	34,41	38,68
Биомасса молоди, мг	0	0	0	0	0	0,35	3,23	5,011	9,21	16,07
Темп роста, мг/сут	3,27									

**Таблица 6. Расчет скорости соматического роста 1 особи *D. magna* в различных вариантах опыта**

Плотность посадки	Интервал времени, сут	$W_{11}$	$W_{15}$	$\Delta W$	Среднесуточный прирост массы особи, мг	
					фактический	по данным Пушаевой Т.Я. (1976)
25 экз/дм <sup>3</sup>	11-15	1,066	1,682	0,616	0,154 ± 0,014	0,087
33 экз/дм <sup>3</sup>	11-15	0,984	1,472	0,488	0,122 ± 0,016	
50 экз/дм <sup>3</sup>	11-15	1,066	1,347	0,281	0,070 ± 0,012	

Примечание:  $W_{11}$  - средняя масса 11 суточной дафнии, мг;  $W_{15}$  - средняя масса 15 суточной дафнии, мг, мг;  $\Delta W$  - прирост массы особи за 4 суток, мг; .

Величина среднесуточного прироста дафний в стоках с очистных сооружений г. Волжска в опытах с плотностью 25 экз/дм<sup>3</sup> и 33 экз/дм<sup>3</sup> оказалась выше, чем в природных водах. Таким образом, выращивание дафний на стоках очистных сооружений благоприятно сказывается на приросте дафний, возможно вследствие лучших трофических условий (таблица 6.)

Результаты изучения влияния средообразующей функции дафний на качество сточных вод после биологической очистки приведены в таблице 7.

**Таблица 7. Изменение показателей качества сточных вод из вторичных отстойников в результате средообразующей деятельности дафний**

Показатель		Сточная вода до эксперимента	Сточная вода с дафниями через 2 сут.	Сточная вода через 2 сут. без дафний
Химический анализ	$XPK$ , мгО <sub>2</sub> /дм <sup>3</sup>	17,7	16,7	19,8
	$NH_4^+$ , мг/дм <sup>3</sup>	0,32	1,07	1,43
	$NO_2^-$ , мг/дм <sup>3</sup>	0,013	0,043	0,044
	$NO_3^-$ , мг/дм <sup>3</sup>	53,70	53,64	54,54
	$PO_4^{3-}$ , мг/дм <sup>3</sup>	3,17	3,85	3,95
	$pH$	7,4	7,3	7,3
Бактериологический анализ	ОКБ	Сплошной рост	Отсутствует	Сплошной рост

Введение культуры *D. magna* в сточную воду из вторичных отстойников позволило снизить количество общих колиформных бактерий на 100%. По всем исследуемым химическим показателям качество воды в пробе с дафниями в конце опыта существенно не отличается от качества воды в пробе, где дафнии отсутствовали.

Исследования по изучению токсичности «живого корма» дафний, выращенных на сточных водах после биологических очистных сооружений показало ее отсутствие: выживаемость мальков рыбок к концу опыта была равна 100 %. Кроме того, кормление рыбок в течение 10 суток молодь дафний, выращенных на сточных водах после биологических очистных сооружений,

не оказало достоверного влияния и на скорость их роста.

Был поставлен производственный эксперимент по выращиванию дафний в садках во вторичных отстойниках после биологической очистки МУП «Водоканал» г. Волжска.

## ВЫВОДЫ

1. При оценке качества природных вод методами токсикологического анализа индикаторные свойства *D. magna* проявляются, прежде всего, в изменении показателя - физиологическое состояние, который необходимо использовать в качестве приоритетного.

2. Экспериментально выявлены новые специфические реакции дафний на действие высокой рекреационной нагрузки на водоем - поражение дафний грибом; на действие сточных вод машиностроительного комплекса – всплытие и прикрепление дафний к поверхностной пленке воды.

3. Выполнение средообразующей функции дафний возможно в производственном стоке Марийского ЦБК начиная с 25 кратного разведения, в стоках содорегенерационного цеха, бумажной фабрики, ВНИИБ без разведения и в стоках промывного цеха после 2-х суточной аэрации и в пищевом производстве средообразующая функция дафний применима в сточных водах хлебобулочного цеха.

4. Средообразующая деятельность *D. magna* в сточных водах вторичного отстойника биологических городских сооружений улучшает качество очистки по бактериологическому показателю: количество общих колиформных бактерий за 2 суток снижается на 100%. На сточных водах из вторичного отстойника городских очистных сооружений возможно получение «живого корма» - культуры *D. magna*, которая не обладает токсичностью.

5. При введении культуры *D. magna* в технологический процесс очистки сточных вод на стадии вторичного отстойника возможно использование ее индикаторных свойств для оценки качества сточных вод по изменению их физиологического состояния, средообразующей функции - для улучшения качества сточных вод по бактериологическому показателю и трофической роли для получения добавочного продукта – «живого корма».

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

1. Мичукова, М.В. Оценка токсичности сточных вод предприятий – основных источников загрязнения р. Волги в районе г. Волжска методом биотестирования на *Daphnia magna* Str. / М.В. Мичукова, А. С. Джафаров, В. В. Кондратьева // Материалы «Круглого стола» Водные ресурсы. Проблемы и пути их решения. - Йошкар-Ола, 2003. - С. 114-121.

2. Мичукова, М.В. Влияние загрязняющих веществ на плодовитость *Daphnia magna* Str. / М.В. Мичукова, А.В. Канарский // Сборник тезисов Межрегион. Конф. молодых ученых «Пищевые технологии». – Казань: КГТУ, 2003. – С. 88-89.

3. Мичукова, М.В. Биотестирование как способ оценки эффективности работы очистных сооружений предприятий / М.В. Мичукова, А.В. Канарский // Сборник материалов II Московского межд. конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития». В 2 ч. Ч. 2. - Москва, 2003. - С. 69.

4. Мичукова, М.В. Оценка токсичности стоков МЦБК на *Daphnia magna* Str. и изучение изменения их токсичности под воздействием различных факторов / М.В. Мичукова, А.В. Канарский // Тезисы молодежной международной конференции «Экология 2003». - Архангельск, 2003. - С. 114-115.
5. Мичукова, М.В. Использование сточных вод хлебокомбината для культивирования *Daphnia magna* Str./ М.В. Мичукова, А.В. Канарский // Сборник тезисов Межрегион. Конф. молодых ученых «Пищевые технологии». - Казань: КГТУ, 2004. - С. 115.
6. Мичукова, М.В. Оценка качества воды открытых водоемов в периоды с различной антропогенной нагрузкой методом биотестирования / М.В. Мичукова, А.В. Канарский // Сборник материалов VI Межд. конгресса «Вода: экология и технология» ЭКВАТЭК – 2004. – Москва, 2004. – С.286-288.
7. Мичукова, М. В. Изучение зависимости токсичности коры от вида древесины и воздействия биоконверсии на короотвалах методом биотестирования на *Daphnia magna* Str. / М.В. Мичукова, А.В. Канарский // Строение, свойства и качество древесины – 2004: Труды IV международного симпозиума. 13-16 сент. 2004. В 2 т. Т. 2. – Санкт-Петербург: СПбГЛТА, 2004. – С. 436-438.
8. Мичукова, М.В. Использование метода биотестирования для эффективной оценки качества сточных вод хлебокомбината / М.В. Мичукова, А.В. Канарский, З.А. Канарская // Сборник докладов III Юбилейная международная выставка-конференция «Высокоэффективные пищевые технологии, методы и средства для их реализации». Ч. 1. – М.: Издательский комплекс МГУПП, 2005. – С. 357-360.
9. Мичукова, М.В. Биотестирование сточных вод пищевого производства на *Daphnia magna* Str. / М.В. Мичукова, А.В. Канарский, З.А. Канарская // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2006. - № 1. - С. 15-16.
10. Мичукова, М.В. Изучение токсичности сточных вод целлюлозно-бумажного производства методом биотестирования на *Daphnia magna* Str. / М.В. Мичукова, А.В. Канарский // Вестник Казанского технологического университета. – Казань: КГТУ, 2006. - № 1. – С. 95-102.
11. Мичукова, М.В. Изучение возможности культивирования *Daphnia magna* Str. в городских сточных водах после биологической очистки / М.В. Мичукова, А.В. Канарский, З.А. Канарская // Вода и экология: проблемы и решения. – СПб: ЗАО «Водопроект – ГКБК. Санкт-Петербург», 2006. - № 3 (28). – С. 50-56.
12. Мичукова, М.В. Биотестирование сточных вод предприятий целлюлозно-бумажной промышленности / М.В. Мичукова, А.В. Канарский, З.А. Канарская // Сборник инф. сообщений Девятой Международной научно-технической конференции Пап-Фор 2006. - СПб, 2006. – С. 57-58.
13. Мичукова, М.В. Культивирование *Daphnia magna* Str. в биологически очищенных городских сточных водах / М.В. Мичукова, А.В. Канарский и др. // Сборник материалов 1-ой Всероссийской научной конференции. – Казань: ТГПУ, 2006. - С. 195-199.
14. Мичукова, М.В. Использование биомассы дрожжей *Saccharomyces Cerevisiae* как биологического ресурса в производстве адсорбентов микотоксинов / Р.А. Ахмадышин, А.В. Канарский, М.В. Мичукова и др. // Сборник материалов 1-ой Всероссийской научной конференции. – Казань: ТГПУ, 2006. - С. 160-162.
15. Мичукова, М.В. Эффективность различных способов оценки токсичности воды / М.В. Мичукова, А.В. Канарский, З.А. Канарская // Экологические проблемы отраслей народного хозяйства: Сборник научных трудов по материалам Межд. научно-практической конференции. - Пенза: Изд. Пенз. Гос. Технол. Акад., 2006. – С. 127-129.
16. Мичукова, М.В. Области использования культуры *Daphnia magna* Str. / М.В. Мичукова, А.В. Канарский // Вестник Казанского технологического университета. – Казань: КГТУ, 2007. - № 3-4. – С. 106-123.
17. Мичукова, М.В. Изучение продукционных свойств популяции *Daphnia magna* Str. выращиваемой на городских сточных водах, прошедших биологическую очистку / М.В. Мичукова, А.В. Канарский // Водоснабжение и санитарная техника. – СПб, 2007. - №11. – С. 36-40.
18. Application of starch from grain rye for superficial glue-coating a paper / A.V. Kanarskij, M.V. Michukova et al. // XIV International Starch Convention Cracow-Moscow, June 20-24, 2006. - P. 115.